

ORGANIZACIÓN SUBMICROSCÓPICA DEL HUEVO DE *DACUS OLEAE* GMEL.

(Dipt. Trypetidae)

POR

E. M. ROBLES-CHILLIDA, M. MUÑIZ y E. BLANCO-MARCO

Publicado en «GRAELLSIA», REVISTA DE ENTOMÓLOGOS IBÉRICOS
(Tomo XXVI, págs. 323-330)

15 marzo 1971

INSTITUTO ESPAÑOL DE ENTOMOLOGÍA
MADRID

ORGANIZACIÓN SUBMICROSCÓPICA DEL HUEVO DE *DACUS OLEAE* GMEL.

(DIPT. TRYPETIDAE)

POR

E. M. ROBLES-CHILLIDA, M. MUÑIZ y E. BLANCO-MARCO

INTRODUCCIÓN.

Las modernas técnicas de Microscopía Electrónica ponen a nuestro alcance un conocimiento más profundo de la organización ultraestructural.

El presente trabajo tiene su origen en los estudios que, con anterioridad, realizamos sobre la influencia que un electrolito, cloruro sódico al 4 %, ejercía sobre la ultraestructura del corion de *Dacus oleae* Gmel., y no trata de ser sino una continuación de aquél. (Robles-Chillida, Muñiz y Blanco-Marco, 1970.) En dicho trabajo se hizo imprescindible estudiar la constitución o estructura normal del corion, tanto en los huevos sin tratamiento alguno como en aquellos cuyo medio había sido agua destilada o ClNa al 4 %. De la comparación entre la ultraestructura del corion en los tres casos pudimos deducir, al menos en parte, por qué tenía lugar una mortalidad del 100 % al ser tratados con el electrolito a la concentración indicada.

Del proceso antes expuesto se desprende la utilidad que representa el disponer, por nuestra parte, de una serie de ultraestructuras "patrones" en agua destilada con cuarenta y ocho horas de edad, que en este caso corresponden al huevo de *Dacus oleae* Gmel., no sólo de su zona cuticular o corion, sino de las capas subsiguientes, cuando en su interior se ha empezado a desarrollar el embrión. De esta forma podremos compararlas con otras pertenecientes a huevos de otras especies de insectos que serán estudiados en el futuro, en las mismas condiciones experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Los huevos de *Dacus oleae* Gmel. se recogieron con unas cuatro horas de edad, lavándolos con agua destilada y filtrándolos, utilizando un embudo Büchner adaptado a un matraz con tubuladura lateral

unido a una trompa de vacío; posteriormente se transportaron a una cápsula Petri de unos 4 cms., que contenía como medio agua destilada, sobre un disco de tela negra para ofrecer el contraste necesario. Con el fin de evitar pérdidas de humedad, estas cápsulas se introdujeron en otra de mayor diámetro, en cuyo fondo había agua; este sistema se mantuvo en una cámara a una temperatura de 25° C durante cuarenta y ocho horas. Transcurrido este período de tiempo, se utilizaron tres series de 12 huevos cada una y los ejemplares de cada lote fueron colocados en diferentes portas excavados y se fijaron en una solución de tetróxido de osmio en tampón Palade 0,2 M. Para obtenerla fue disuelta una ampolla de 0,1 gr. de ácido ósmico en 10 mililitros de tampón, con lo que la disolución resultante tuvo una concentración en tetróxido de osmio del 1 %. El tiempo de fijación fue de dos horas a 4° C y el pH empleado 6,9.

Después, cada lote de huevos se lavó durante cinco minutos con acetona al 50 %, englobándose los ejemplares en una gota de agar-agar, eliminando de esta forma, parcialmente, las dificultades de manipulación que tienen lugar debido al pequeño tamaño del material en estudio.

La deshidratación se realizó mediante acetona a diversas concentraciones y para la inclusión se utilizó una mezcla de resinas sintéticas "Durcupán". Los cortes se efectuaron con un ultramicrotomo L. K. B., realizándose todos a unas 200 micras de la zona de eclosión, excepto algunos cuya distancia a la mencionada zona era sólo de 100 micras (fig. 1). El grosor de dichos cortes estaba comprendido entre 700-900 Å. La observación se realizó con el microscopio Siemens Elmiskop I. del Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, así como también con los microscopios Philips E. M. 300 y Jeol-Jen. 100 B. del citado Organismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La figura núm. 1 nos muestra un corte transversal del huevo, a unas 100 micras de distancia de la zona de eclosión. En dicha fotografía, obtenida a 1.200 aumentos, se observan las distintas capas que lo constituyen, sin mostrarnos detalles de las mismas, lo cual exponemos en las siguientes microfotografías, pero consideramos interesante presentar la figura núm. 1 por darnos una idea de conjunto de la constitución general del huevo de *Dacus oleae* Gmel. Así, distinguimos, en primer lugar, una estructura externa, claramente definida, se-

guida de un espacio de amplitud variable por el que transcurre una formación limitada por dos membranas que lo divide en dos partes asimétricas; a continuación aparece la estructura embrionaria propiamente dicha.

En la figura núm. 2 presentamos un corte transversal a 17.320 aumentos, en la que se observa la estructura externa y puede distin-

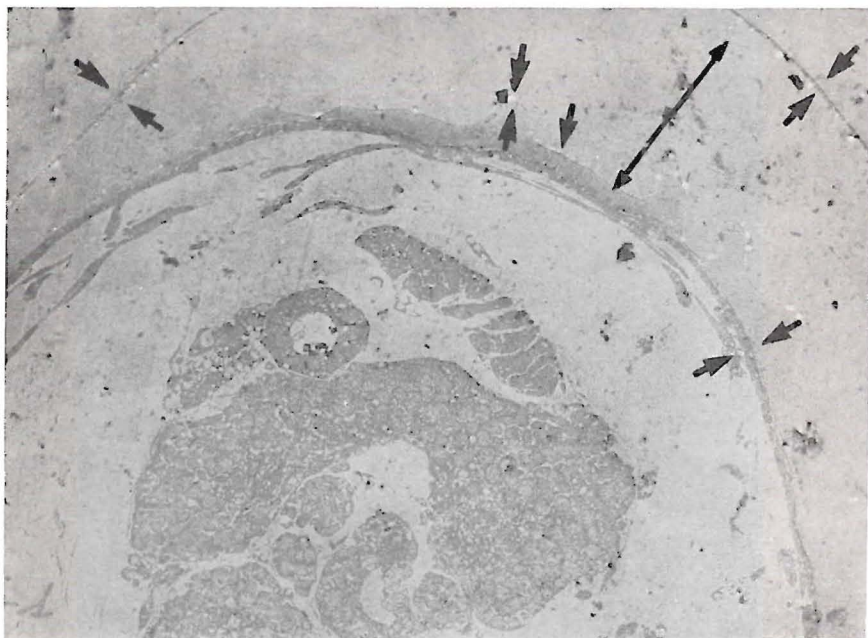


Fig. 1.—Corte transversal de huevo de *Dacus oleae* Gmel. ($\times 1.200$.)

guirse una finísima película discontinua más superficial (P. e.), que limita por la parte superior a la masa principal cuticular. En ésta distinguimos unos espacios elipsoidales de un tamaño medio de $1/3$ de micra de diámetro mayor y $1/10$ de micra de diámetro menor. Dichos espacios pueden ejercer la función de "Plastrones" (P. l.) (Hinton, 1969) y sobre ellos puede recaer la misión de realizar el intercambio de gases, imprescindible para que el huevo verifique el proceso respiratorio. Por su parte interna, la masa principal, anteriormente descrita, queda limitada por otra película continua, también de pequesímimo grosor (P. i.). En la figura núm. 3 y a 15.500 aumentos vemos cómo inmediatamente después aparece un espacio de amplitud variable,

ya que la distancia entre la cutícula y la masa embrionaria oscila notablemente, según se aprecia al recorrer la sección transversal que aparece en esta microfotografía. En este espacio, como indicamos con anterioridad, se encuentra una formación de un espesor aproximado

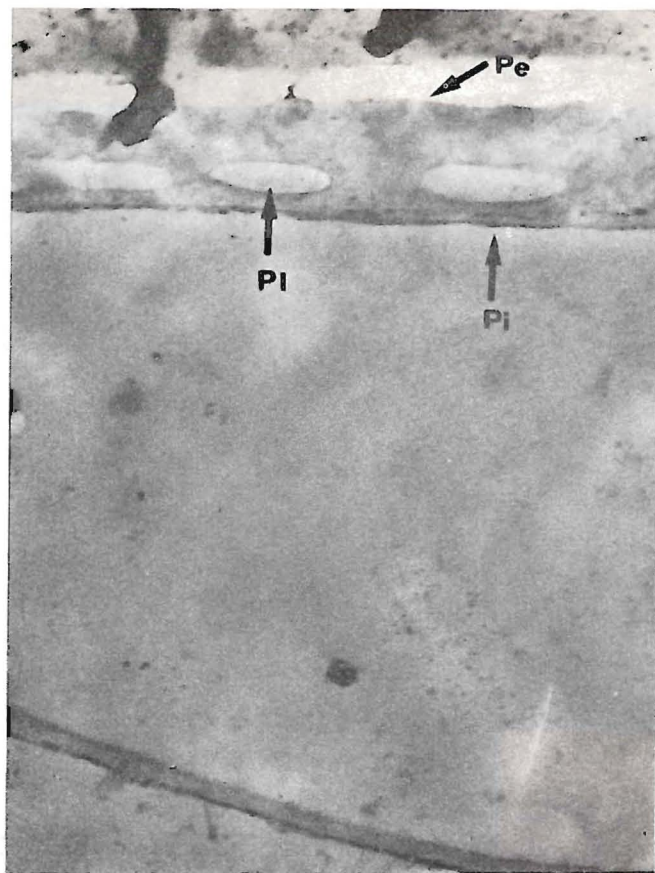


Fig. 2.—Corte transversal de la estructura externa del huevo de *Dacus oleae* Gmel
Película externa (Pe.); plastrones (Pl.); película interna (Pi.). ($\times 17.320$.)

de 1/16 de micra, constituida por dos membranas claramente determinadas, como podemos observar en la figura 4, a 12.768 aumentos. Su trayectoria es de aspecto sinusoidal, que se acentúa en aquella zona en la que su distancia a la cutícula es notablemente superior si la comparamos con las restantes zonas.

Por otra parte, destacamos el hecho de que la membrana interna de esta formación ofrece puntos de contacto con algunas de las numerosas evaginaciones que presenta la masa embrionaria, como veremos a continuación.



Fig. 3.—Corte transversal de huevo de *Dacus oleae* Gmel. Espacio limitado por la cutícula (Cu) y la superficie embrionaria (Se). ($\times 15.500$.)

En la figura núm. 5, a 12.400 aumentos, así como en la figura núm. 6, a 43.890 aumentos, podemos observar que la superficie del embrión se encuentra delimitada por dos capas paralelas, que de forma continua sufren una serie de evaginaciones e invaginaciones, siendo las primeras mucho más acentuadas. Algunas de éstas, por su parte

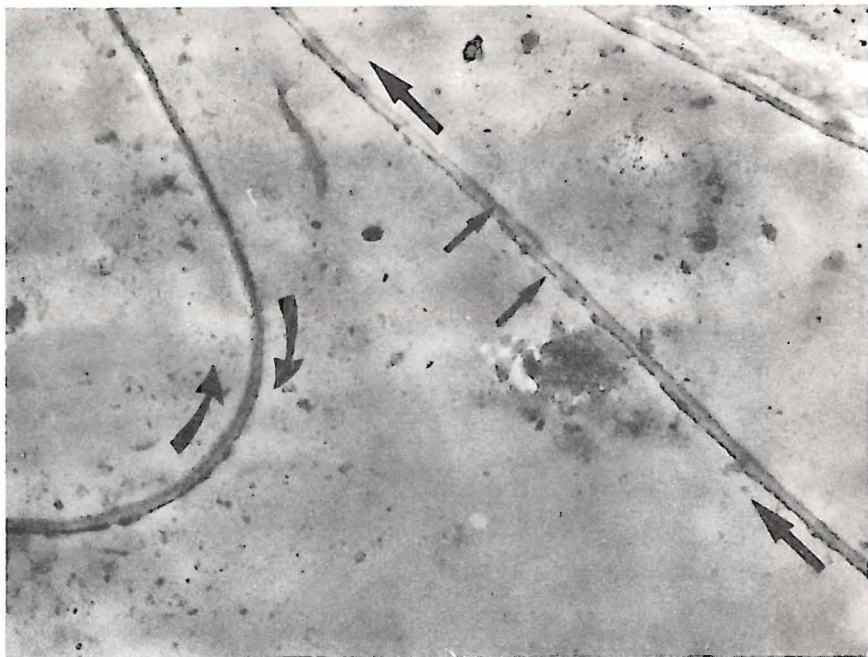


Fig. 4.—Corte transversal de huevo de *Dacus oleae* Gmel. Formación sinusoidal. ($\times 12,768$.)

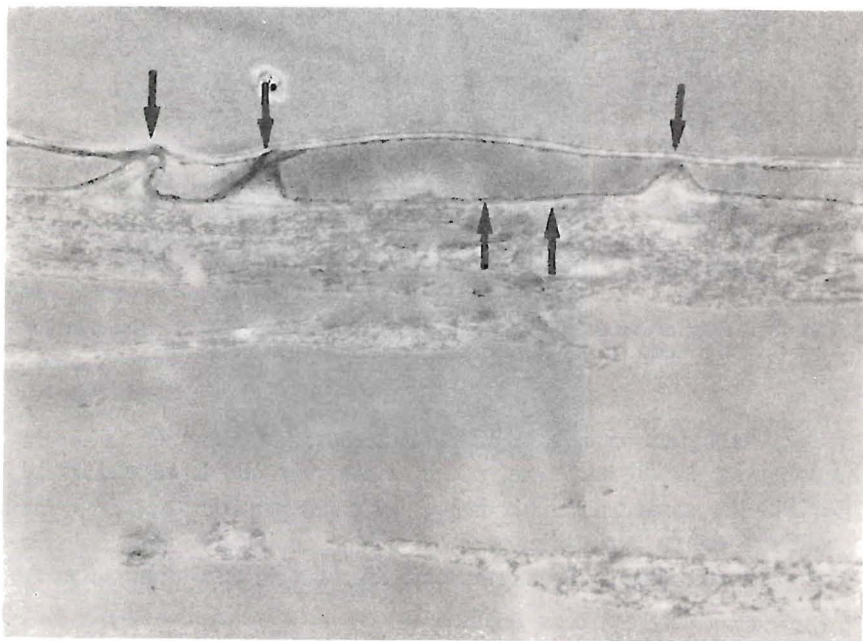


Fig. 5.—Corte transversal de huevo de *Dacus oleae* Gmel. Superficie embrionaria y puntos de contacto de ésta con la formación sinusoidal. ($\times 12,400$.)

más prominente, entran en contacto con la formación sinusoidal que circunda al embrión (fig. 6).

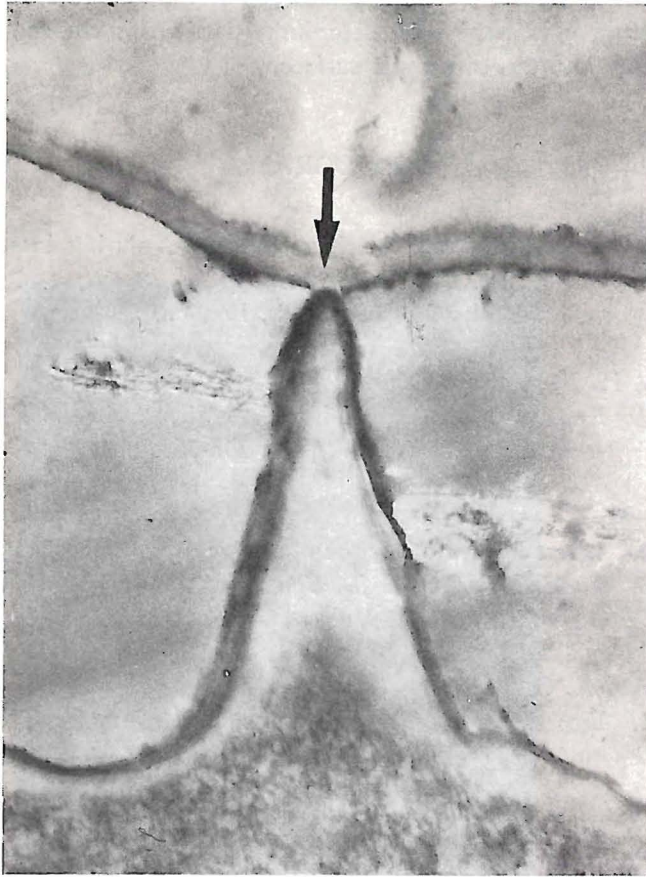


Fig. 6.—Corte transversal de huevo de *Dacus oleae* Gmel. Detalle del punto de contacto de la evaginación de la superficie embrionaria con la formación sinusoidal. ($\times 43.890$).

Los autores desean expresar su agradecimiento al Prof. Dr. M. Rubio Huertos, por las facilidades prestadas en todo momento para la realización del presente trabajo.

SUMMARY

Several submicroscopical structures of Forty eight hours old *Dacus oleae* Gmel., eggs have been described. The zones studied, include the cuticle and the embryonal surface.

BIBLIOGRAFIA

AGRELL, I.

1964. Physiological and biochemical changes during insect development. In *The Physiology of Insects*, t. I, 93-97. M. Rockstein. New-York, London.

HINTON, H. E.

1969. Respiratory systems of insect egg shells. *Annual Review of Entomology*, t. XIV, págs. 343-368.

MUÑIZ, M.

1970. Latest investigations on the olive fly: Physiology. *Sterile Male Technique for Control of Fruit Flies*. STI/PUB/276. I. A. E. A., Vienna, págs. 144-147.

RICHARDS, A. G.

1951. Egg shells. In *The Integument of Arthropods*, Minneapolis, págs. 279-282.

ROBLES-CHILLIDA, E. M., MUÑIZ, M., y BLANCO-MARCO, E.

1970. Influencia del ClNa sobre la ultraestructura del Corion de *Dacus oleae* Gmel. (*Dipt. Tephritidae*). *Graellsia*, Madrid, t. XXV (1969), págs. 325-333.